

CARACTERIZAÇÃO E EXPRESSÃO DO OPERON *fixABCX* DE *Azospirillum brasilense* Sp7. J. Gross¹, J. Frazzon³, L. M. P. Passaglia², D. P. Potrich², C. A. G. Blaha², I. S. Schrank¹ (Departamento de Biotecnologia Molecular e Biotecnologia¹, Departamento de Genética², Instituto de Biociências, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos³, UFRGS.)

A fixação biológica do nitrogênio consiste na conversão do nitrogênio gasoso em amônia realizada por microrganismos adaptados para tal função. Exemplo destes são as bactérias diazotróficas atuantes tanto em simbiose com raízes de plantas, como em vida livre no solo, ou ambos os casos. *A. brasilense* sp7 é uma bactéria diazotrófica que fixa nitrogênio em associação com raízes de gramíneas em condições de microaerofilia e deficiência de nitrogênio. Nesta, diversos genes relacionados à fixação do nitrogênio já foram caracterizados. Os genes *fixABCX* demonstram-se essenciais para que tal processo ocorra. Estes genes estão distribuídos em um único operon sendo os mesmos transcritos conjuntamente e controlados segundo o sistema geral de fixação do nitrogênio pela proteína regulatória NifA. Em nosso laboratório obtivemos plasmídeos recombinantes contendo segmentos destes genes, o que possibilitou a construção de um mapa físico do operon e o seqüenciamento parcial do mesmo. Com isto demonstramos parte da estrutura dos genes *fixA*, *fixB* e *fixC* e a seqüência da região regulatória do operon. Esta região possui estruturas importantes: uma denominada UAS para a ancoragem da proteína regulatória NifA, e um promotor⁵⁴, típico da transcrição de operons envolvidos no metabolismo do nitrogênio. A região regulatória está sendo clonada em fusão com o gene *lacZ* para averiguação da funcionalidade desta em função da ativação pela proteína NifA. As seqüências de nucleotídeos obtidas dos genes *fixABC* de *A. brasilense*, mostram que as proteínas derivadas destas possuem homologia elevada com genes *fixABC* de outras bactérias diazotróficas, bem como com flavoproteínas transportadoras de elétrons, tanto em organismos eucarióticos como em procarióticos. Tal similaridade sugere uma função de transporte de elétrons no processo de fixação do nitrogênio pelas proteínas FixABCX (FAPERGS/CNPq).